

未利用アカモクの生理活性評価

—未利用アカモクからの化粧品・食品原料等の製品化を目指す取り組み—

石川 智之*1 古賀 慎太郎*1 山川 雅之*2 川崎 孝治*2 寺本 充寛*2 正好 輝旭*3

Assessment of Biological Activities of Unutilized Sargassum Horneri

- Efforts to commercialize cosmetics, food ingredients, etc. from unutilized Sargassum horneri -

Tomoyuki Ishikawa, Shintaro Koga, Masayuki Yamakawa, Koji Kawasaki, Mitsuhiro Teramoto
and Teruaki Masayoshi

アカモクはフコイダンやフコキサンチン等の栄養成分を豊富に含有している食用の海藻であることが既に知られているが、軸の硬い部分や色の悪い部分は廃棄されており課題となっている。そこでこの未利用のアカモクを化粧品や食品等の原料として新たに利活用する方法を探索するために、アカモクエキスの生理活性評価、並びにフコキサンチンの定量を行った。その結果、アカモクエキスは強いヒアルロニダーゼ阻害活性を示すとともに、弱いながらもSOD様活性、チロシナーゼ阻害活性、細胞増殖効果を有することを確認した。また、フコキサンチンの大部分はエキス抽出後の残渣中に残存していることが推察された。

1 はじめに

アカモク (*Sargassum horneri*) はヒバマタ目ホンダワラ科に属し、最大10 mくらいまで育つ食用の海藻である。日本列島全土の浅海に分布しており、フコイダンやフコキサンチン等の栄養成分を豊富に含有していることが既に知られている。しかしながら、軸の硬い部分や色の悪い部分は廃棄されており課題となっている。この未利用のアカモクについて、新たな利活用方法を探索し、廃棄される量を減らすことが望まれている。また、このことはSDGsにおける目標12「持続可能な消費と生産」のターゲット12.5「廃棄物の発生防止、削減、再生利用及び再利用により、廃棄物の発生を大幅に削減する。」とも方向性が合致する。

そこで本研究では、未利用アカモクの化粧品や食品等の原料としての活用、付加価値を高めた製品開発を目的として、アカモクエキスの生理活性評価、及びフコキサンチンの定量を行ったので、その結果について報告する。

2 研究, 実験方法

2-1 試料

未利用アカモクの乾燥・粉碎は(株)マサエイ水産

加工と佳秀工業(株)が共同で実施した。5種類のアカモクエキス(熱湯処理液, 解凍時ドリップ液, 粉碎抽出液(室温), 粉碎抽出液(加温), ろ過処理液), 及び粉碎抽出液(加温)の抽出残渣についても,(株)マサエイ水産加工と佳秀工業(株)が準備した。

2-2 アカモクエキスの生理活性評価

2-2-1 SOD様活性

SOD様活性の測定は、SOD測定キット-WST(同仁化学研究所)を用いて行った。4倍希釈した各アカモクエキスサンプルと調製した試薬を混合し、37℃で20分反応させ、450 nmの吸光度を測定した。SOD様活性はプロトコールの計算方法にしたがって算出した。測定は各アカモクエキスサンプルについて2回ずつ行った。

2-2-2 チロシナーゼ阻害活性

各アカモクエキスサンプル(終濃度10%), チロシナーゼ from mushroom(シグマ)(終濃度16.7 U/ml), 基質であるL-DOPA(シグマ)(終濃度0.4 mg/ml)を50 mMリン酸バッファー(pH 6.8)中において37℃で20分反応させ、492 nmの吸光度増加量を測定した。ポジティブコントロールとしてビタミンC(和光純薬)(終濃度1 mg/ml)を使用した。チロシナーゼ阻害活性は以下の式(1)により阻害率を算出した。式中の ΔPB はポジティブブランク(チロシナーゼ+基質)の吸光度増加量, ΔNB はネガティブブランク(ΔPB の基質なしのコントロール)の吸光度増加量, ΔS は各アカモク

*1 生物食品研究所

*2 佳秀工業株式会社

*3 株式会社マサエイ水産加工

エキスサンプル（チロシナーゼ+基質+サンプル）の吸光度増加量である。測定は各アカモクエキスサンプルについて2回ずつ行った。

阻害率 (%) =

$$(\Delta \text{PB} - \Delta \text{NB} - \Delta \text{S}) / (\Delta \text{PB} - \Delta \text{NB}) \times 100 \quad \dots (1)$$

2-2-3 ヒアルロニダーゼ阻害活性

前田らの報告¹⁾を参考にして測定を行った。まず、各アカモクエキスサンプル100 μl （終濃度20%）とヒアルロニダーゼ from bovine testes（シグマ）の酵素溶液50 μl （終濃度1.3 mg/ml in 0.1 M酢酸緩衝液(pH 4.0)）を混合し、37 $^{\circ}\text{C}$ で20分反応させた。

次にヒアルロニダーゼの活性化剤であるコンパウンド48/80（シグマ）の0.1 M酢酸緩衝液(pH 4.0)を100 μl （終濃度0.5 mg/ml）添加して37 $^{\circ}\text{C}$ で20分反応させ、続いてヒアルロニダーゼの基質である鶏冠由来のヒアルロン酸ナトリウム（和光純薬）の0.1 M酢酸緩衝液(pH 4.0)を250 μl （終濃度0.8 mg/ml）添加して37 $^{\circ}\text{C}$ で30分反応させた。その後、0.4 N水酸化ナトリウム水溶液を100 μl 添加してヒアルロニダーゼの反応を停止させ、0.8 Mホウ酸水溶液(pH 9.1)を100 μl 添加して100 $^{\circ}\text{C}$ で3分加熱、氷上で冷却後、上記の反応溶液を70 μl と10 mg/mlのp-ジメチルアミノベンズアルデヒド(p-DAB)（ナカライテスク）溶液600 μl （100 mg/mlのp-DAB in 10 N 塩酸:酢酸=6:44を酢酸で10倍希釈した溶液）を混合し37 $^{\circ}\text{C}$ で20分反応させた後、585 nmの吸光度を測定した。ヒアルロニダーゼ阻害活性は以下の式(2)により阻害率を算出した。式中のPBはポジティブブランク（アカモクエキスサンプルの代わりに水を入れたコントロール）の吸光度、NBはネガティブブランク（PBのヒアルロニダーゼなしのコントロール）の吸光度、Sは各アカモクエキスサンプル（サンプル+ヒアルロニダーゼ）の吸光度、SBはサンプルブランク（Sはヒアルロニダーゼなしのコントロール）の吸光度である。測定は各アカモクエキスサンプルについて2回ずつ行った。

阻害率 (%) =

$$\{(\text{PB}-\text{NB})-(\text{S}-\text{SB})\} / (\text{PB}-\text{NB}) \times 100 \quad \dots (2)$$

2-2-4 細胞増殖試験

正常ヒト真皮線維芽細胞（NHDF）を48ウェルプレートに 1.25×10^4 cells/wellの細胞数で撒き、各アカモクエキスサンプルを添加した。37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 濃度

で2日間培養後、細胞増殖/細胞毒性アッセイキット（Cell Counting Kit-8）（同仁化学研究所）を用いて450 nmと620 nmの吸光度を測定した。各アカモクエキスサンプルに対する細胞増殖効果は、サンプルを添加していない細胞の増殖を100%とし、以下の式(3)により相対比を算出して評価した。式中のPBはポジティブブランク（アカモクエキスを添加していない細胞）の吸光度、NBはネガティブブランク（PBの細胞なしである培地のみコントロール）の吸光度、Sはサンプル（各アカモクエキスサンプルを添加した細胞）の吸光度、SBはサンプルブランク（Sの細胞なしである培地+各アカモクエキスサンプルのコントロール）の吸光度である。測定は各アカモクエキスサンプルについて3回ずつ行った。

$$\text{相対比 (\%)} = (\text{S}-\text{SB}) / (\text{PB}-\text{NB}) \times 100 \quad \dots (3)$$

2-3 アカモクエキス及び抽出残渣のフコキサンチン定量

エキス抽出前の乾燥・粉砕後の未利用アカモク、及び粉砕抽出液（加温）の抽出残渣は、Micro Smash MS-100（TOMY）、2 mmのジルコニアのビーズを用いて、5,000 rpmで5分間粉砕後、重量の20倍量のエタノールを添加して、4 $^{\circ}\text{C}$ で24時間かけて残成分の抽出を行い、遠心後の上清についてフコキサンチン定量を行った。粉砕抽出液（加温）及びろ過処理液のアカモクエキスは凍結乾燥後、重量と同量のエタノールを添加して、4 $^{\circ}\text{C}$ で24時間かけて成分抽出後、遠心後の上清についてフコキサンチン定量を行った。フコキサンチン定量は高速液体クロマトグラフ Waters 製 600S Controller/616 Pump/486 Tunable Absorbance Detectorを用いて、SymmetryShield RP18（5 μm 、4.6 x 250 mm I. D.）を使用し、移動相はアセトニトリル：水 = 75:25で流速1 ml/min、450 nmの吸光度による検出法で行った。

3 結果と考察

3-1 アカモクエキスの生理活性評価

3-1-1 SOD様活性

各アカモクエキスについてSOD様活性を測定した結果を図1に示す。

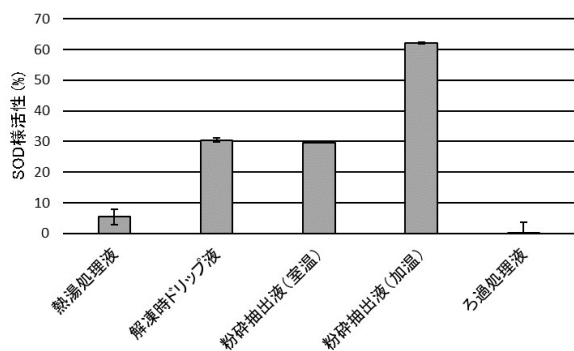


図1 5種類のアカモクエキスのSOD様活性

粉碎抽出液（加温）が最もSOD様活性が高かったが、その活性は2 U/ml程度、ビタミンC（330 U/mg）に換算すると24 μg/ml程度であり、それほど強くなかった。

また、ろ過処理液においては全くSOD様活性が見られなかった。ろ過処理前の粉碎抽出液（加温）においてはSOD様活性が認められることから、ろ過処理により活性成分が除去されたか、あるいはろ過処理中に活性が失活したものと考えられる。

3-1-2 チロシナーゼ阻害活性

各アカモクエキスについてチロシナーゼ阻害活性を測定した結果を図2に示す。

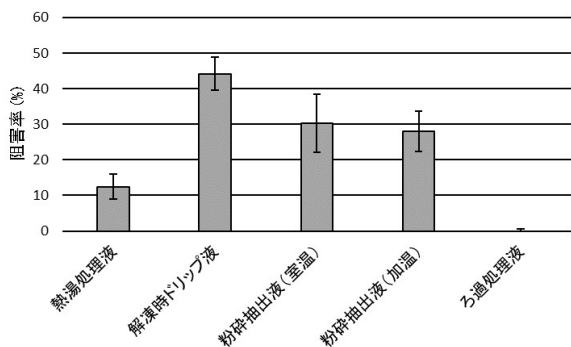


図2 5種類のアカモクエキスのチロシナーゼ阻害活性

解凍時ドリップ液の阻害率が約40%で最もチロシナーゼ阻害活性が高かったが、ポジティブコントロールとして用いたビタミンCの阻害率がほぼ100%であることと比較すると、あまり強い活性ではなかった。

また、ろ過処理液においては全くチロシナーゼ阻害活性が見られなかった。ろ過処理前の粉碎抽出液（加温）においてはチロシナーゼ阻害活性が認められることから、SOD様活性と同様にろ過処理により活性成分が除去されたか、あるいはろ過処理中に活性が失活したものと考えられる。

3-1-3 ヒアルロニダーゼ阻害活性

各アカモクエキスについてヒアルロニダーゼ阻害活性を測定した結果を図3に示す。

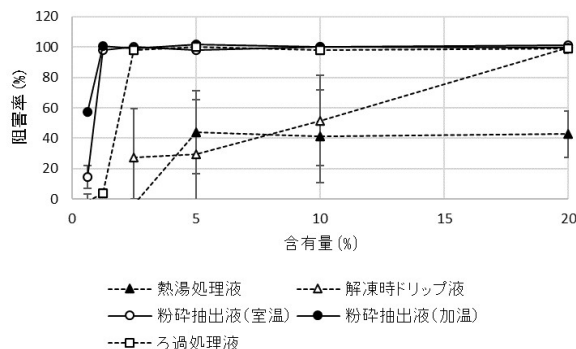


図3 5種類のアカモクエキスのヒアルロニダーゼ阻害活性

粉碎抽出液（室温）及び粉碎抽出液（加温）においては、含有量が1.25%以上で阻害率がほぼ100%であり、強いヒアルロニダーゼ阻害活性を示した。ろ過処理液においては含有量が2.5%以上で阻害率がほぼ100%であった。なお、ろ過処理液は粉碎抽出液（室温）及び粉碎抽出液（加温）よりも濃度が2倍薄い条件で抽出を行っていることから、ヒアルロニダーゼ阻害活性は粉碎抽出液（室温）及び粉碎抽出液（加温）の阻害活性と同等と見なされる。したがって、SOD様活性やチロシナーゼ阻害活性と異なり、ろ過処理後のエキスが強いヒアルロニダーゼ阻害活性を維持していることが確認できた。

3-1-4 細胞増殖試験

各アカモクエキスについて、細胞の培養液に対して最大2%まで添加して細胞増殖効果を測定した。その結果を図4から図6に示す。

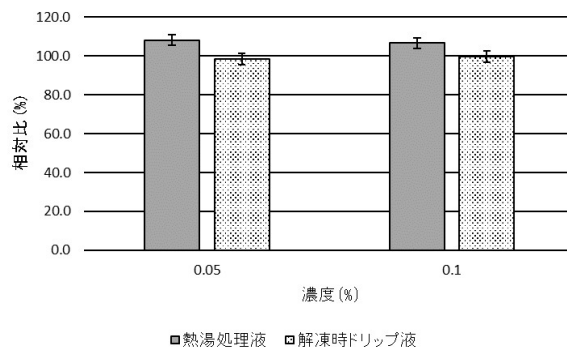


図4 熱湯処理液及び解凍時ドリップ液の細胞増殖効果

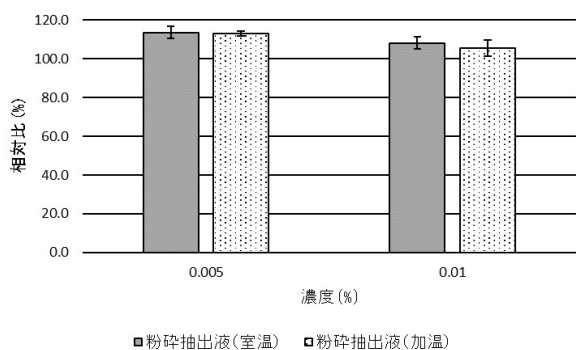


図5 粉砕抽出液（室温及び加温）の細胞増殖効果

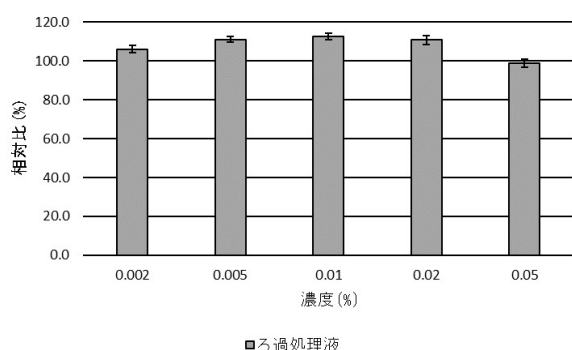


図6 ろ過処理液の細胞増殖効果

熱湯処理液では0.05%~0.1%、粉砕抽出液（室温及び加温）では0.005%~0.01%において弱いながらも細胞増殖促進効果が見られた。一方で、解凍時ドリップ液ではいずれの濃度においても細胞増殖効果は見られなかった。また、ろ過処理液では0.005%~0.02%において細胞増殖促進効果が見られたことから、ろ過処理後も細胞増殖促進効果を維持していることが確認できた。

3-2 アカモクエキス及び抽出残渣のフコキサンチン定量

アカモクエキス及び抽出残渣のフコキサンチン定量を行った結果を表1に示す。

表1 アカモクエキス及び抽出残渣のフコキサンチン定量

	フコキサンチン量 (mg/100 g) ^{※1}
加温水抽出前	54.8
粉砕抽出液（加温）	4.4
ろ過処理液	0.0184
加温水抽出残渣	60.2 ^{※2}

※1 乾燥アカモク 100 g 当たりの量
（加温水抽出残渣を除く）

※2 抽出残渣 100 g 当たりの量

加温水抽出前のアカモクのフコキサンチン量が54.8mg/100gであったのに対して、粉砕抽出液（加温）に含有するフコキサンチン量は4.4 mg/100gと少なく、大部分のフコキサンチンは抽出されなかったことが確認できた。また、ろ過処理液はほとんどフコキサンチンを含有していなかった。

一方で、加温水抽出残渣については、乾燥アカモクではなく抽出残渣100 g当たりのフコキサンチン定量を行っているため単純に比較することはできないが、60.2 mg/100gのフコキサンチンが含まれていることが確認できた。

4 まとめ

本研究により、未利用アカモクから抽出したエキスについて、強いヒアルロニダーゼ阻害活性が認められた。また、弱いながらもSOD様活性、チロシナーゼ阻害活性、細胞増殖促進効果も確認された。ヒアルロニダーゼ阻害活性については、粉砕抽出液（室温及び加温）において特に高い活性が認められた。ろ過処理液では生理活性の多くが消失していたが、ヒアルロニダーゼ阻害は活性が維持されていた。ヒアルロニダーゼは皮膚（真皮）の構成成分であるヒアルロン酸を分解することから、その阻害活性には抗しわや肌弾力維持の効果が期待できる。このことから、アカモクエキスは有望な化粧品素材になり得ると考えている。

一方で、フコキサンチン定量においては、抽出エキスの含有量は少なく、その大部分は抽出残渣に残存していることが推察された。フコキサンチンは抗肥満効果や抗炎症効果の生理活性を有していることが既に知られており、この残存しているフコキサンチンの新たな利活用法については今後の課題である。

謝辞

本研究は、公益財団法人福岡県リサイクル総合研究事業化センター研究開発事業（研究会）により実施しました。

5 参考文献

1)前田有美恵ら：食衛誌，Vol. 31，No. 3，pp. 233-237(1990)